там животного происхождения.

Повышенная заболеваемость людей бруцеллезом в Палласовском районе Волгоградской области, по нашему миению, связана с традиционной занятостью населения животноводством, а также миграционными процессами, усилившимися за последнее время.

Данный район прилегает к республике Казахстан, и на его территории казахи являются основной составляющей населения; свобода общения с соседними районами Казахстана за последние годы не уменьшилась, а значительно возросла,

Установили, что колебания в заболеваемости людей бруцеллезом, в определенной степени, повторяют изменения в уровне заболеваемости бруцеллезом крупного рогатого скота. Однако, полного совпадения ни в территориальном, ни во временном измерениях не отмечено (рис. 2).

Полученные данные имеют выраженное практическое значение для разработки целевой программы искоренения этой инфекции на территории изучаемых регионов.

Литература:

1. Выборов Г.Л. Эпидемиология бруцеллеза в Хабаровском крае // Микробиология. 1970. №7. С. 20-21.
2. К вопросу о эпидемиологическом значении различных биотипов Br. abortus в Западной Сибири / А.С. Егоров, И.А. Косилов, В.П. Костюков и др. // Матер, конфер. по бруцеллезу ИЭМ им. ак. Н.Ф. ГамепенМ.,1971. С. 6-8.
3. Поберезкин М.Н. Эпидемиологические особенности современного бруцеллеза; Автореф. дисс. д.м.н. Куйбышев, 1986. 40 с.
4. Управление эпизоотическим процессом на модели бруцеллеза крупного рогатого скота в Нижнем Поволжье / В.В. Сочнсв, Н.В. Филиппов, В.П. Быков и др. Н. Новгород, 1999.376 с.

Эпидемическая проекция бруцеллеза в зоне его повышенного риска, как подтверждение функционирования его паразитарной системы / А.В. Пашкин, Ю.В. Пашкина, В.П. Быков и др.// Актуальные вопросы экологической безопасности сельского и лесного хозяйства: Материалы международного симпозиума: «Стратегия развития сельского и лесного хозяйства, сферы услуг в РФ и в мире». 3-5 ноября 2003 г. Нижний Новгород. М.: ООО «Ветеринарный консультант», Н. Новгород, изд. Ю.А. Николаев, 2004. С. 217-221.

УДК: 637 :616.98 :579.869.1

А.Ю. Нечаев

(Санкт-Петербургская Государственная Академия ветеринарной медицины)

К ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ ПАТОГЕННЫХ ЛИСТЕРИЙ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Статистика болезней пищевого происхождения, приведенная ВОЗ, регистрирует значительное увеличение в Европе заболеваний, обусловленных потреблением продуктов питания, контаминированных патогенными микроорганизмами. Одним из них является листериоз, возбудителем которого является Listeria monocytogenes. Заболеваемость им составляет 6-8 случаев на один миллион человек в год с летальностью до 30-40% [5].

Возникновение пищевого листериоза связано с употреблением различных продуктов питания (мясо и мясные продукты, молоко и молочные продукты, рыба, яйца), изготовленных с нарушением режимов тепловой обработки или обсеменённых патогенными листериями на этапе производства. В Российской Федерации с 2002 года определен перечень пищевых продуктов, разработан ГОСТ Р 51921-2002 и МУК 4.2.1122-02, в соответствии с которыми должны проводиться исследования на наличие L.monocytogenes [2,4].

В основу ГОСТ Р 51921-2002 заложены методы определения возбудителя листериоза в образцах клинического материала от больных животных. Следует отметить, что выявление L.monocytogenes в неклинических образцах имеет ряд особенностей. Одной из наиболее существенных является сопутствующее выделение непатогенных видов листерий, обладающих сходными с L.monocytogenes биологическими характеристиками [1],

По сообщениям некоторых отечественных авторов, важнейшей проблемой рутинного производственного контроля является недостаточная специфичность применяемых методов выявления патогенных листерий в пищевых продуктах [6]. Целью данной работы является оценка

Таблица 1

Методы выявления факторов патогевности L.monocytogenes

Фактор патогенности (белок)	1ен, кодирующий фактор патогенное™	Методы выявления	
		Фенотипический	Генотипический
Листериолизин-0	Н1у-А	Р-гемолиз на кровяном агаре	ДНК-РНК гибридизация с геном листериолизина О ПЦР с использованием праймера Ыу-А
Фосфолипаза С	Р1с	Выявление на хромогенной среде Rapid-L.mono	ПЦР с использованием праймера PLC1-PLC2

Таблица 2

Результаты выявления факторов патогевности листерий фенотипическими и генотипическими методами

об-разца	Фенотинические методы			1енотшшческие методы	
	DIM-тест API-Listeria	(3-гемолиз на кровяном агаре	Фосфолииазная реакция на среде Rapid-L.mono	ПЦР с использо-ванием праймеров Ыу-А PLC1-PLC2	ДНК-РНК гибридизация с геном листериолизина О
Ы	+	+	+	+	+
L2	+	-	-	-	-
L3	+	-	-	-	-
L4	-	-	-	-	-
L5	-	-	-	-	-
L6	-	-	-	-	-
L7	-	-	-	-	-
L8	-	-	-	-	-

эффективности фенотипических и гено-тилических методов дифференцирования культур листерий, выделенных из мяса, исходя из определения наличия в них факторов патогенности.

Материалы и методы

Материалом исследования служили 62 образца мяса-сырья свинины охлажденной. Отбор проб осуществлялся в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами (СанПиН 2.3.2.1078-01). Выделение и идентификацию L. monocytogenes проводили согласно ГОСТ Р 51921-02 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий Listeria monocytogenes» и МУК 4.2.1122-02 «Организация контроля и методы выявления бактерий Listeria monocytogenes в пищевых продуктах», а также с использованием биохимических тест-панелей API Listeria («BioMerieux»).

Выявление наличия у выделенных культур рода Listeria последовательности ДНК, кодирующей продукцию токсичного белка листериолизина-О (основного фактора патогенности возбудителя листериоза), проводили в реакции твердофазной ДНК-РНК гибридизации с хемилюминесцентным детектированием. При постановке реакции использовали набор «Lumiprobe 24 Listeria monocytogenes* («EUROPROBE»).

Окончательное определение наличия генов, кодирующих фактор патогенности, определялось методом полимеразной цепной реакции. В работе использовали праймеры фирмы «Ниармедик Плюс», Taq-полимеразу и другие реагенты производства фирмы «Бионем». Методы, использованные в работе, приведены в таблице 1.

Результаты исследований

На первом этапе работы из образцов мяса с использованием селективных методов обогащения листерий были выделены в восьми случаях. Для подтверждения принадлежности выделенной культуры к роду Listeria и дифференцирования принадлежности культур выделенных листе-

1. Бакулов] щевая! лактики.5
2. ГОСТ Р : ды выв monoc
3. Костснко] терии —] тов//1
4. МУК 4.2.Ц

рий к патогенному виду L.monocytogenes использовали биохимические панели API Listeria («BioMerieux»). В результате было обнаружено в 3-х случаях присутствие L.monocytogenes и в 5-и случаях L.innocua, дифференциация которых проводилась на основании DIM-теста в панели API-Listeria. Эти данные подтверждали утверждение отечественных авторов о том, что L.innocua является наиболее часто сопутствующим L.monocytogenes микроорганизмом в мясе и мясо-продуктах [3].

При постановке фенотипического теста на **Р**-гемолиз на кровяном агаре и при посеве на хромогенную среду Rapid-L.mono изменения, характерные для патогенной L.monocytogenes, были обнаружены только у одной выделенной культуры.

Результаты постановки молекулярно-биологических реакций подтвердили принадлежность к патогенному виду листерий тоже только одного из трех «мясных» изолятов, первоначально идентифицированных как L.monocytogenes. Два других штамма листерий не показали положительной реакции в ПЦР, что было четко видно на электрофореграммах — визуализации результатов ПЦЕ Распределение полос амплификации у L. monocytogenes только в одном случае полностью соответствовало фрагменту маркера. Результаты наличия признаков патогенности в 8 образцах, в которых были выделены бактерии рода Listeria, представлены в таблице 2.

Таким образом, только один штамм показал наличие кодируемых факторов патогенности (генов Hly-A — в реакции ДНК-РНК гибридизации, генов Hly-A и Plc в ПЦР), которые четко совпадали с их фенотипическими проявлениями: **Р**-гемолизом на кровяном агаре и фосфолипазной реакцией на хромогенной среде Rapid-L.mono. Остальные 7 штаммов, не обладавшие генами патогенности, не проявлявшие гемолитических свойств, не способные к расщеплению фосфолипазы на питательных средах и имевшие сходство по максимальному количеству фенотипических и метаболических тестов с L.innocua (за исключением DIM-теста в панели API-Listeria) были признаны в окончательном итоге представителями данного непатогенного вида.

Выводы

У исследованных штаммов «мясного» происхождения имела место полная корреляция фенотипических проявлений патогенности и ее генотшшческих детерминант.

Результаты исследований подтвердили предположение о том, что оценка патогенетического потенциала штамма на основании DIM-теста в панели API Listeria («BioMerieux») является недостаточной.

Подтверждена целесообразность обязательного, а не альтернативного использования для определения L.monocytogenes тестов, выявляющих наличие генов, кодирующих факторы патогенности, в комплексе с ключевыми фенотипическими. Отказ от многочисленных фенотипических тестов и использование комбинации высокоспецифичных тестов патогенности (генотипических, иммунологических) и ключевых фенотипических позволит повысить эффективность производственного контроля пищевой продукции.

Заключение

Учитывая вышеописанное, следует признать, что выяснение реальной распространенности патогенных листерий в продуктах и объектах пищевого производства, принятие действенных мер профилактики и предупреждение необоснованных забраковок продукции связано с необходимостью совершенствования методических подходов к выделению и идентификации возбудителя и разработки эффективных ускоренных способов обнаружения L.monocytogenes в пищевых продуктах. Внедрение в практику ветеринарно-санитарной экспертизы высокочувствительных и специфичных тестов является одной из мер, обеспечивающий выпуск качественной и безопасной продукции.

Литература:

1. Бакулов И.А., Васильев Д.А. Листериоз как пищевая инфекция. Вопросы диагностики и профилактики. Ульяновск: 1991.23 с.
2. ГОСТ Р 51921-02 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий Listeria monocytogenes».
3. Костенко Ю.Е, Шагова Т.С, Янковский К.С. Листерий — критерий безопасности мясных продуктов// Мясная Индустрия, 1997 №3. С. 23-24.
4. МУК 4.2.1122-02 «Организация контроля и методы выявления L. monocytogenes в пищевых продуктах»
5. Программа ВОЗ по наблюдению и контролю за пищевыми инфекциями и интоксикациями в Европе. Вестник. 2004. №80.
6. Тартаковский И.С. и др. Методические подходы к выделению и идентификации листерий в продуктах питания. В сб. Профилактическая медицина - практическому здравоохранению. Вып. 1. М.: 2001. С. 92-94.